9月 September
2020, 63(9): 1136-1144
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2020.09.011

雄性棉铃虫感受性信息素的分子和神经机制研究进展

刘晓岚[1,2], 尹新明[1], 王桂荣[2,*], 赵新成[1,*]

(1. 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 主要借助于性信息素通讯完成雌雄识别,实现交配和种群繁衍。关于棉铃虫感受性信息素机制的研究一直是我国化学生态学领域的热点和重心,研究结果有助于开发和改进棉铃虫防治的性引诱剂。本文将对棉铃虫雄虫感受雌虫释放的性信息素的机制进行综述,以期为深入研究棉铃虫及其他相关昆虫的性信息素感受的分子和神经机理提供参考。棉铃虫雌虫性信息素腺体合成和释放多种长链、饱和或非饱和的脂肪醛和醇等化合物,其中 *Z*11-16: Ald 为主要性信息素成分,*Z*9-16: Ald 和 *Z*9-14: Ald 为次要性信息素成分,不同组分按一定比例混合可明显增强对雄性棉铃虫的引诱效果,而化合物 *Z*11-16: OH 和高剂量的 *Z*9-14: Ald 对性信息素引诱活性具有明显的抑制效果。相应地,雄性棉铃虫触角上 A, B 和 C 3 种类型的毛形感器能够感受这些信息化合物。A 类型毛形感器内表达受体 OR13 感受 *Z*11-16: Ald, B 类型毛形感器内表达 OR14b 感受 *Z*9-14: Ald, C 类型毛形感器内表达 OR6 和 OR16 感受 *Z*9-16: Ald, *Z*9-14: Ald, *Z*11-16: Ac 和 *Z*11-16: OH。受体的表达位置和功能与不同类型毛形感器的电生理反应特性相一致。钙离子成像证明在棉铃虫触角叶内的 3 个扩大型神经纤维球接受这些气味信息,其中神经纤维球云状体接受 *Z*11-16: Ald, 背中间后侧纤维球接受 *Z*9-16: Ald, 背中间前侧纤维球接受 *Z*9-14: Ald, *Z*11-16: Ac 和 *Z*11-16: OH。这些研究成果在感器、受体和脑中枢水平上揭示了棉铃虫感受性信息素的机制,在这些研究基础上,我们认为需要深入开展以下方面的研究:(1)进一步鉴定相关性信息素受体的功能和定位;(2)深入研究脑内嗅觉高级中枢对性信息素信息的处理和整合神经机制;(3)明确棉铃虫性信息素感受受到寄主植物、光周期、温度、湿度等环境因素的影响及机制。

关键词: 棉铃虫; 性信息素; 受体; 感器; 触角叶; 神经纤维球

中图分类号: Q966 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2020)09-1136-09

Research progress in the molecular and neural mechanisms of sex pheromone reception in male *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)

LIU Xiao-Lan[1,2], YIN Xin-Ming[1], WANG Gui-Rong[2,*], ZHAO Xin-Cheng[1,*] (1. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Disease and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: The cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, mainly relies on sex pheromone communication for mate orientation and reproduction. The mechanisms of pheromone reception in *H. armigera* are the hot

基金项目: 国家自然科学基金-河南联合基金项目(U1604109); 国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目(31861133019); 河南省高校创新人才支持计划项目(19HASTIT011)

作者简介: 刘晓岚, 女, 1994 年 9 月生, 河南平顶山人, 博士研究生, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: xiaolanberry@126.com

* 通讯作者 Corresponding authors, E-mail: xincheng@henau.edu.cn; grwang@ippcaas.cn

收稿日期 Received: 2020-02-13; 接受日期 Accepted: 2020-04-22

topic in the field of chemical ecology in China. In this article, we reviewed the reception mechanism to female sex pheromone in male *H. armigera*, hoping to provide references for further investigation of the molecular and neural mechanisms of sex pheromone perception in *H. armigera* and other related insects. In the sex pheromone glands of female adult, long-chain, saturated or unsaturated fatty aldehydes, and alcohols were synthesized, among which *Z*11-16: Ald was used as the main sex pheromone component, while *Z*9-16: Ald and *Z*9-14: Ald as the secondary sex pheromone components. The blends of these components at certain ratios show enhanced attraction to male *H. armigera*. *Z*11-16: OH and a high-dose *Z*9-14: Ald inhibit the attractiveness of pheromone blends to male *H. armigera*. Correspondingly, three types of trichoid sensilla, types A, B, and C, on the antennae of male *H. armigera* could detect these compounds. The receptor OR13 responding to *Z*11-16: Ald is expressed in the type-A trichoid sensillum, OR14b responding to *Z*9-14: Ald is expressed in the type-B trichoid sensillum, and OR6 and OR16 responding to *Z*9-16: Ald, *Z*9-14: Ald, and *Z*11-16: OH are expressed in the type-C trichoid sensillum. The expression sites and functions of the receptors are consistent with the electrophysiological characteristics of different types of trichoid sensilla. In addition, the results of calcium imaging showed that three macroglomeruli tune to these odors, among which the glomerulus of cumulus tunes to *Z*11-16: Ald, the posterior dorsomedial glomerulus to *Z*9-16: Ald, and the anterior dorsomedial glomerulus to *Z*9-14: Ald, *Z*11-16: Ac and *Z*11-16: OH. These results revealed the mechanisms of pheromone reception in male *H. armigera* at the levels of sensillum, receptor and central nervous system. Based upon these studies, we think it is necessary to make further studies on the following aspects: (1) further identifying the function and location of the related sex pheromone receptors; (2) further studying the processing and integration of sex pheromone information in high brain center; (3) clarifying the influences and mechanisms of such environmental factors as host plant, photoperiod, temperature and humidity on the sex pheromone perception in *H. armigera*.

Key words: *Helicoverpa armigera*; sex pheromone; receptor; sensillum; antennal lobe; glomerulus

通常,性成熟雌性昆虫释放的微量信息化合物即性信息素,作为化学信号作用于同种雄性个体,引起趋向和交配行为(Karlson and Butenandt, 1959)。蛾类昆虫主要依赖于性信息素通讯引诱同种异性个体,完成雌雄识别,实现交配和种群繁衍。关于蛾类性信息素的研究一直是化学生态学领域的热点和重心,研究结果有助于开发和改进害虫防治的性引诱剂(Symonds and Elgar, 2008)。国内学者曾就实夜蛾属 *Heliothis* 和铃夜蛾属 *Helicoverpa* 性信息素通讯系统(赵新成等, 2003a)、蛾类性信息素通讯系统的遗传与进化(赵新成和王琛柱, 2006)和昆虫触角叶的结构(赵新成等, 2015)方面的研究进展进行了综述。本文将对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 雄虫感受雌虫释放的性信息素的分子和神经机制的研究进展进行综述,以期为深入研究棉铃虫及其他相关昆虫的嗅觉机理提供参考。

1　棉铃虫性信息素组分及功能

1959 年,首个蛾类性信息素即家蚕 *Bombyx mori* 雌性信息素成分反-10, 顺-12-十六碳双烯醇(*trans*-10, *cis*-12-hexadecadienol, *E*10, *Z*12-16: OH)获得鉴定(Karlson and Butenandt, 1959),其后,鳞翅目其他昆虫信息素的提取鉴定工作陆续展开。Piccardi 等(1977)首次从棉铃虫雌虫性信息素腺体提取物中鉴定到顺-11-十六碳烯醛(*cis*-11-hexadecenal, *Z*11-16: Ald)。随后,顺-11-十六碳烯醇(*cis*-11-hexadecenol, *Z*11-16: OH)、顺-9-十六碳烯醛(*cis*-9-hexadecenal, *Z*9-16: Ald)、十六醛(hexadecanal, 16: Ald)和十六醇(hexadecanol, 16: OH)等化合物在棉铃虫雌虫性信息素腺体中获得鉴定(Nesbitt *et al*., 1979)。Kehat 和 Dunkelblum (1990)发现棉铃虫雌虫性信息素腺体内除上述已鉴定的成分外,还有顺-7-十六碳烯醛(*cis*-7-hexadecenal, *Z*7-16: Ald)和顺-9-十四碳烯醛(*cis*-9-tetradecenal, *Z*9-14: Ald)(Kehat and Dunkelblum, 1990)。Zhang JP 等(2012)在棉铃虫雌虫性信息素腺体内共鉴定出 10 种化合物成分,其中庚醛(heptanal, 7: Ald)、壬醛(nonanal, 9: Ald)和十四醛

(tetradecanal, 14: Ald)为新鉴定出的组分。腺体中10 种组分 7: Ald, 9: Ald, 14: Ald, *Z*9-14: Ald, 16: Ald, *Z*7-16: Ald, *Z*9-16: Ald, *Z*11-16: Ald, 16: OH 和 *Z*11-16: OH 的含量相对比例为0.56: 4.92: 0.81: 0.30: 3.77: 0.96: 1.37: 100: 1.27: 4.40 (Zhang JP *et al*., 2012)。在不同的研究中,所有被鉴定出的化合物中,*Z*11-16: Ald 在信息素腺体内的相对含量均为最高,然而,与其他组分的比例存在变异,其原因可能是在不同地理位置分布的棉铃虫本身信息素腺体成分含量具有差异。电生理研究表明,9: Ald, *Z*9-14: Ald, *Z*7-16: Ald, *Z*9-16: Ald, *Z*11-16: Ald 和 *Z*11-16: OH 均能引起棉铃虫雄虫触角的电生理反应(Piccardi *et al*., 1977; Nesbitt *et al*., 1979; Zhang JP *et al*., 2012)。

室内行为生测和田间诱捕试验证明,单独使用 *Z*11-16: Ald 就能够引诱棉铃虫雄虫,证明 *Z*11-16: Ald 是棉铃虫重要的性信息素成分(Piccardi *et al*., 1977; Nesbitt *et al*., 1979; Kehat *et al*., 1980; Kehat and Dunkelblum, 1990; Wu *et al*., 1997; Zhang JP *et al*., 2012)。但是,单独的 *Z*11-16: Ald 引诱率非常低,而加入少量 *Z*9-16: Ald 组成混合物可显著增加引诱活性(Kehat *et al*., 1980; Nesbitt *et al*., 1980)。这说明性信息素腺体内次要成分 *Z*9-16: Ald 也是棉铃虫的性信息素成分。但对不同的地理种群,性信息素混合物 *Z*11-16: Ald 与 *Z*9-16: Ald 的诱捕效果最佳比例不同,变化范围一般为 90% ~99% 的 *Z*11-16: Ald 对1% ~10% 的 *Z*9-16: Ald(Kehat *et al*., 1980; Wu *et al*., 1997; Tamhankar *et al*., 2003),在我国山东棉铃虫种群 *Z*11-16: Ald 与 *Z*9-16: Ald 的比例为97:3时田间诱捕效果最佳(Wu *et al*., 1997)。然而,在性信息素混合物 *Z*11-16: Ald 与 *Z*9-16: Ald 中加入 *Z*11-16: OH 或 *Z*9-14: Ald 均显著降低了对棉铃虫雄虫的引诱效果(Kehat and Dunkelblum, 1990; Wu *et al*., 1997),所以 *Z*11-16: OH 和 *Z*9-14: Ald 是抑制棉铃虫引诱行为的拮抗剂。最近研究发现,*Z*11-16: OH 具有调节棉铃虫最佳交配时间的作用,新羽化的棉铃虫雌虫性腺内含有较高比例的 *Z*11-16: OH,能抑制棉铃虫雄虫与未成熟的雌虫交配(Chang *et al*., 2017)。但最新研究发现棉铃虫雌虫在实际交配过程中不太可能释放出足量的 *Z*11-16: OH 来抑制交配行为,雌虫释放 *Z*11-16: OH 在求偶交配发挥的作用还有待进一步研究(Hughes and Cardé, 2020)。而化合物 *Z*9-14: Ald 虽能抑制棉铃虫雄虫对性信息素的反应,但当在 *Z*11-16: Ald 与 *Z*9-16: Ald 混合物中加入0.3% 的 *Z*9-14: Ald 时,性信息素混合物对棉铃虫雄虫的诱捕量增加 1 倍(Zhang JP *et al*., 2012),这说明 *Z*9-14: Ald 也是棉铃虫的性信息素成分,但只在低剂量时具有引诱效果,而剂量较高时会表现出抑制效果(Wu *et al*., 2015)。田间诱捕试验证明 *Z*7-16: Ald 对性信息素混合物诱捕效果没有影响,但实验室内行为试验证明在混合物中添加 1% 的 *Z*7-16: Ald 可以提高交配率(Kehat and Dunkelblum, 1990)。化合物 9: Ald 虽能引起棉铃虫雄虫触角的电生理反应,但室内行为生测和田间诱捕均证明 9: Ald 没有行为活性(Zhang JP *et al*., 2012)。化合物 16: Ald 不能引起明显的雄虫触角电生理活性(Nesbitt *et al*., 1979),但 Wu 等(1997)发现在混合物 *Z*11-16: Ald 与 *Z*9-16: Ald 加入4% ~ 7% 的 16: Ald 能明显增加田间诱捕效果。然而 Kehat 和 Dunkelblum (1990) 在风洞试验和 Zhang JP 等 (2012)在田间诱捕试验却未发现 16: Ald 有增效作用。因此,16: Ald 是否有行为引诱活性还需要开展更多试验进行验证。性信息素腺体内其他化合物 7: Ald, 14: Ald 和16: OH 对棉铃虫雄虫没有电生理活性,也没有行为活性。

综上所述,棉铃虫雌虫性信息素腺体合成和释放多种长链、饱和或非饱和的脂肪醛和醇,其中*Z*11-16: Ald 为主要性信息素成分,*Z*9-16: Ald 和 *Z*9-14: Ald 为次要性信息素成分,不同组分间按一定比例混合可明显增强对棉铃虫雄虫的引诱效果,而化合物 *Z*11-16: OH 和高剂量的 *Z*9-14: Ald 对性信息素引诱活性具有明显的抑制效果。

烟青虫 *Helicoverpa assulta* 是棉铃虫近缘种,其性信息素腺体成分包括 16: Ald, *Z*9-16: Ald, *Z*11-16: Ald, 顺-9-十六碳烯醇 (*cis*-9-hexadecenol, *Z*9-16: OH), *Z*11-16: OH, 十六碳酯(hexadecenyl acetate, 16: Ac), 顺-9-十六碳烯乙酸酯(*cis*-9-hexadecenyl acetate, *Z*9-16: Ac), 顺-11-十六碳烯乙酸酯(*cis*-11-hexadecenyl acetate, *Z*11-16: Ac)和 *Z*7-16: Ald,其中 *Z*9-16: Ald 和 *Z*11-16: Ald 为烟青虫的性信息素,比例为 93:7时引诱效果最佳,与棉铃虫性信息素的比例恰好相反(Wang *et al*., 2005; Zhao *et al*., 2006; 董钧锋等, 2015)。化合物 *Z*9-16: OH 为行为拮抗剂,抑制烟青虫雄虫对性信息素的行为反应。除此之外,在性信息素混合物中加入 *Z*9-14: Ald,性信息素对烟青虫雄虫的引诱活性也被抑制。棉铃虫和烟青虫性信息素腺体成分相似,性信息素引诱活性成分和抑制活性成分也相似,这为比较研究性信息素

感受的分子机制、神经机制以及物种形成机制提供了适宜的模型。烟青虫和棉铃虫主要性信息素和次要性信息素比例不同；此外，烟青虫性信息素腺体内含有棉铃虫性腺所没有的酯类，并且其醇类化合物含量也高于棉铃虫，这些差异可能为近缘种之间的生殖隔离提供了保障（Li *et al*., 2017）。

2　棉铃虫感受性信息素的分子机制

昆虫感受气味化合物的过程，需要多种化学感受蛋白共同参与（图 1）。气味分子大多为脂溶性化合物，气味分子进入昆虫嗅觉感器内，与对应的气味结合蛋白（odorant binding proteins, OBPs）结合，穿过昆虫血淋巴到达感器内嗅觉受体神经元（olfactory receptor neurons, ORNs）的树突膜，与相应的气味受体（odorant receptors, ORs）相互作用，从而激活嗅觉受体神经元，产生膜电位，使气味化学信号转换为神经元电信号沿神经元轴突传入脑。气味分子随后被气味降解酶（odorant degrading enzyme, ODE）降解（Leal, 2013）。

目前在棉铃虫中已鉴定出 3 种性信息素结合蛋白（pheromone binding proteins, PBPs），分别是 HarmPBP1, HarmPBP2 和 HarmPBP3（表 1）（Wang *et al*., 2004; Guo *et al*., 2012; Liu *et al*., 2012; Zhang TT *et al*., 2012; Zhang *et al*., 2015）。3 种 PBP 主要在雄蛾触角上表达。它们与近缘种的 PBP 的氨基酸序列一致性很高：HarmPBP1 与烟青虫的 PBP1（HassPBP1）和烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 的 PBP1（HvirPBP1）的氨基酸序列一致性分别达到 75.29% 和 88.82%；HarmPBP2 与 HassPBP2 和 HvirPBP2 的氨基酸序列一致性分别达到 83.03% 和 96.67%；HarmPBP3 与 HassPBP3 的氨基酸序列一致性达到 97.56%。运用荧光竞争结合试验发现，HarmPBP1 可以与 *Z*11-16: Ald 和 *Z*9-16: Ald 结合，与 *Z*9-16: Ald 的结合力较强（Zhang TT *et al*., 2012; Dong *et al*., 2017a; Ye *et al*., 2017）。HarmPBP2 和 HarmPBP3 与 *Z*11-16: Ald 和 *Z*9-16: Ald 的结合能力表现为弱或无，但 HarmPBP3 对低浓度的 *Z*9-16: Ald 具有亲和力。这 3 种 PBPs 与 *Z*9-14: Ald 均不结合。进一步利用 RNA 干扰技术研究 PBP 功能发现，单独对 PBP1 或 PBP2 进行干扰对雄蛾感受 *Z*11-16: Ald 的电生理及行为反应无显著影响，而 PBP1 与 PBP2 同时沉默则会导致雄蛾对 *Z*11-16: Ald 感受的敏感性降低，说明 PBP1 与 PBP2 都参与了主要性信息素组分的识别（Dong *et al*., 2017b）。而利用 CRISPR-Cas9 基因敲除技术敲除 PBP1 基因后，雄蛾对 *Z*11-16: Ald, *Z*9-16: Ald, *Z*9-14: Ald 的电生理反应都会显著降低，表明了 PBP1 对感受雌蛾释放的性信息素混合物有重要作用（Ye *et al*., 2017）。HarmPBP1 的 3D 模型模拟以及定点诱变与荧光竞争结合试验证明 Phe12, Trp37 和 Phe119 是 HarmPBP1 结合性信息素化合物配体的关键残基（Zhang TT *et al*., 2012; Dong *et al*., 2017a）。除 PBP 外，普通气味结合蛋白 HarmOBP7 对 *Z*11-16: Ald 和 *Z*9-16: Ald 也有结合作用，说明普通气味结合蛋白也可能参与性信息素的识别（Sun *et al*., 2013）。

表 1　棉铃虫性信息素结合蛋白

Table 1　Pheromone binding proteins (PBPs) of *Helicoverpa armigera*

性信息素结合蛋白 PBPs	氨基酸数量 Number of amino acids	分子量(kD) Molecular weight	等电点 Isoelectric point	GenBank 登录号 GenBank accession no.	参考文献 References
HarmPBP1	170	21	5.77	HQ436362	Zhang TT *et al*., 2012
HarmPBP2	149	21	5.94	HQ436360	Zhang TT *et al*., 2012
HarmPBP3	164	21	6.05	AF527054	Zhang TT *et al*., 2012

通过序列分析鉴定了棉铃虫 7 个性信息素受体，分别为 HarmOR6, HarmOR11, HarmOR13, HarmOR14（或 HarmOR14a）HarmOR14b, HarmOR15 和 HarmOR16（表 2）。其中 HarmOR13, HarmOR11 和 HarmOR16 在第一次报道中分别被称为 HarmOR1, HarmOR2 和 HarmOR3（Zhang *et al*., 2010）。爪蟾卵母细胞表达系统、钙离子成像系统、CRISPR-Cas9 基因敲除技术和转基因果蝇系统为研究棉铃虫性信息素受体的功能提供了有力工具（Liu *et al*., 2013; Jiang *et al*., 2014; Liu *et al*., 2014; Chang *et al*., 2017; Wang *et al*., 2018）。研究发现，受体 HarmOR13 的配体是 *Z*11-16: Ald（Liu *et al*., 2013; Liu *et al*., 2014; Jiang *et al*., 2014; Chang *et al*., 2017; Wang *et al*., 2018），HarmOR14b 配体为 *Z*9-14: Ald（Jiang *et al*.,

表 2 棉铃虫性信息素受体

Table 2 Sex pheromone receptors of *Helicoverpa armigera*

性信息素受体 Sex pheromone receptors	开放阅读框(bp) ORF	长度(aa) Length	配体 Ligand	参考文献 References
HarmOR6	191	719	*Z*9-16: Ald	Liu *et al*., 2012, 2013
			*Z*9-14: Ald	Liu *et al*., 2012, 2013
			***Z*9-16: OH**	Jiang *et al*., 2014; Wang *et al*., 2018
			*Z*9-14: OH	Wang *et al*., 2018
HarmOR13	425	1 596	***Z*11-16: Ald**	Liu *et al*., 2012, 2013; Jiang *et al*., 2014; Wang *et al*., 2018
HarmOR14 (HarmOR14a)	313	1 378	–	Liu *et al*., 2012, 2013; Jiang *et al*., 2014
HarmOR14b	441	1 530	***Z*9-14: Ald**	Jiang *et al*., 2014; Chang *et al*., 2016
HarmOR16	422	1 616	***Z*11-16: OH**	Liu *et al*., 2012, 2013; Chang *et al*., 2017; Wang *et al*., 2018
			*Z*9-14: Ald	Liu *et al*., 2012, 2013; Wang *et al*., 2018
HarmOR11	430	1 736	–	Liu *et al*., 2012, 2013
HarmOR15	387	1 323	–	Liu *et al*., 2012, 2013

粗体示最佳受体配体。The chemical in bold is the best tuned ligand of the receptor.

2014; Chang *et al*., 2016), HarmOR16 的配体是 *Z*11-16: OH 和 *Z*9-14: Ald(Liu *et al*., 2013; Chang *et al*., 2017; Wang *et al*., 2018), HarmOR6 的配体是 *Z*9-16: Ald 和 *Z*9-14: Ald (Liu *et al*., 2013),或 *Z*9-16: OH(Jiang *et al*., 2014),最近,果蝇 *Or67d*^{GAL4} 系统证明 HarmOR6 的配体为 *Z*9-16: OH 和顺-9-十四碳烯醇(*cis*-9-tetradecenol, *Z*9-14: OH)(Wang *et al*., 2018)。不同的研究中,HarmOR6 的配体化合物存在差异,可能与表达系统的不同和测定化合物谱的大小相关。然而,在烟青虫内,HarmOR14b 直系同源体 HassOR14b 的配体为 *Z*9-16: Ald。HarmOR14b 与 HassOR14b 仅在 2 个氨基酸位点 F232I 和 T355I 具有差异,说明氨基酸的单点突变可以改变受体对化合物的结合特性(Yang *et al*., 2017)。这也说明了此前 Jiang 等(2014)和 Chang 等(2016)所获得的 HassOR14b 因 3 个氨基酸位点之差未能鉴定到其配体。氨基酸的点突变为理解近缘种棉铃虫和烟青虫的演化关系提供了新视角。在烟青虫中,与棉铃虫直系同源的其他受体 HassOR6, HassOR13 和 HassOR16 的配体分别为 *Z*9-16: OH, *Z*11-16: Ald 和 *Z*9-14: Ald(Jiang *et al*., 2014)。目前尚未发现受体 OR11, OR14 与 OR15 的配体。最近研究发现, OR14 基因突变的棉铃虫成虫交配时间和持续时长发生变化,说明 OR14 参与调控棉铃虫的交配行为(Cao *et al*., 2020)。

3 棉铃虫的嗅觉神经系统

3.1 嗅觉外周神经系统

昆虫的嗅觉器官主要是触角,上面密布着不同类型的感器。棉铃虫触角上主要包含 6 种感器类型,分别为毛形感器、锥形感器、腔锥形感器、栓锥形感器、刺形感器及耳形感器,其中毛形感器数量最多,约占 80%。毛形感器分为长毛和短毛 2 种亚型,长毛形感器长约 20 ~ 30 μm,与触角表面呈 50 ~ 80°,端部呈弧形或钩状;短毛形感器长约 10 ~ 20 μm,多数基部弯曲(王桂荣等, 2002; Chang *et al*., 2016)。触角电位图记录显示棉铃虫雄虫触角对雌虫性信息素有明显的电生理反应(赵新成等, 2003b)。目前,通过单感器记录(single sensillum recording, SSR)技术已鉴定出棉铃虫触角上对不同信息素成分反应的 A, B 和 C 类 3 种类型的毛形感器(图 1)。A 类型毛形感器感受主要性信息素成分 *Z*11-16: Ald; B 类型毛形感器感受 *Z*9-14: Ald; C 类型毛形感器感受 *Z*9-16: Ald 和 *Z*9-14: Ald, *Z*11-16: OH 和 *Z*11-16: Ac(Chang *et al*., 2016)。其中,B 类型毛形感器可分为 2 种亚型,B1 亚型能感知 *Z*9-14: Ald,B2 亚型能感知 *Z*9-14: Ald 和 *Z*11-16: OH;C 类型毛形感器可分为 3 种亚型,C1 亚型感受 *Z*9-14: Ald, *Z*9-16: Ald, *Z*11-16: OH 和 *Z*11-16: Ac, C2 亚型感受 *Z*9-14: Ald, *Z*11-16: OH 和*Z*9-16: Ald, C3 亚型感受 *Z*9-14: Ald 和 *Z*9-16: Ald(Xu *et al*., 2016)。各类感器亚型的存在可能是物种形成过程中化学感觉适应的一种现象(Xu *et al*., 2016)。棉铃虫雄性的 A 类型毛形感器数量最多,B 类型的数量次之,C 类型毛形感器数量最少;而烟青虫雄性的 A 和 C 类型感器数量与棉铃虫的正好相反(Wu *et al*., 2013, 2015; Xu *et al*., 2017)。棉铃虫和烟青虫的种间杂交实验表明,棉铃虫的 A 类型与 C 类型感器数量比例在杂交后代中呈显性(Zhao *et al*., 2006; Xu *et*

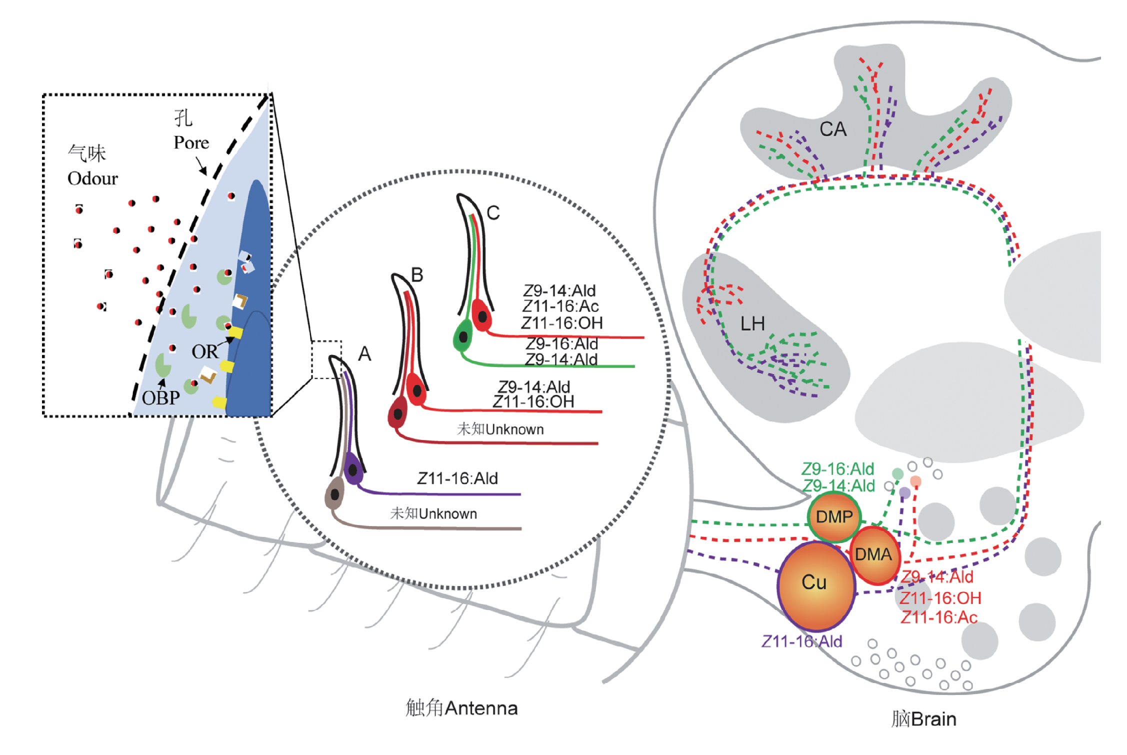


图 1　棉铃虫的嗅觉系统及神经通路

Fig. 1　Olfactory system and neural pathways in *Helicoverpa armigera*

A：A 类型毛形感器 Type-A trichoid sensillum；B：B 类型毛形感器 Type-B trichoid sensillum；C：C 类型毛形感器 Type-C trichoid sensillum；CA：蕈形体冠 Mushroom body calyx；Cu：云状体 Cumulus；DMA：背中间前侧纤维球 Anterior dorsomedial glomerulus；DMP：背中间后侧纤维球 Posterior dorsomedial glomerulus；LH：侧角 Lateral horn；OBP：气味结合蛋白 Odorant binding protein；OR：嗅觉受体 Olfactory receptor. 彩色虚线代表气味信息在脑中枢传导的神经通路。The dashed lines in colors indicate the olfactory pathways.

al., 2017)。双色原位杂交技术研究发现棉铃虫雄蛾触角 A，B 和 C 类型毛形感器内均含有 2 个 ORNs，A 类型毛型感器内的 2 个 ORNs 分别表达 OR11 与 OR13，B 类型毛型感器内分别表达 OR15 和 OR14b，C 类型毛型感器内分别表达 OR6 和 OR16(Chang *et al*., 2016)。同时，在该项研究中 Chang 等(2016)还发现烟青虫表达 OR6 和 OR16 的 2 个 ORNs 共同位于同一个 C 类型感器内，与棉铃虫的相似。然而，Yang 等(2017)开展的共定位研究发现 C 类型毛形感器内 2 个 ORNs 分别表达 OR6 和 OR14b 或者分别表达 OR16 和 OR14b。表达 OR6 和 OR16 的 2 个 ORNs 总是位于不同感器中，而不在同一感器内。类似于受体 HassOR14b 功能的研究，两项研究的结果不同，原因或许是作者使用的聚合酶和表达载体不同(Yang *et al*., 2017)。关于棉铃虫和烟青虫受体 OR6，OR16 及 OR14b 在 ORN 的定位上的差异仍需要进一步研究和验证。

3.2　棉铃虫嗅觉中枢神经系统

触角叶(antennal lobe，AL)为昆虫脑内第一个整合和处理嗅觉信息的神经中枢，具有气味识别、处理、整合和学习的功能(Hansson and Stensmyr，2011)。棉铃虫触角叶呈半球状，成对，位于中脑，食道咽喉两侧，通过触角神经束与外周 2 触角连接。荧光染色标记证明棉铃虫触角叶由 4 类神经元构成，即嗅觉受体神经元(ORN)、局域中间神经元(local interneuron，LN)、投射神经元(projection neuron，PN)和远心神经元(centrifugal neuron，CN)(Zhao *et al*., 2016a)。这 4 类神经元通过突触联系，形成许多球状神经纤维网，称为触角叶神经纤维球(Zhao *et al*., 2016a)。棉铃虫每个触角叶内约有 80 个神经纤维球。纤维球形态和位置具有明显雌雄二型性(Zhao *et al*., 2016b)。棉铃虫雄虫触角叶具有 3 个特异的神经纤维球，位于触角神经进入脑的入口处，分别为云状体(cumulus，Cu)、背中间前侧纤维球(anterior dorsomedial glomerulus，DMA)和背中间后侧纤维球(posterior dorsomedial glomerulus，DMP)，其体积分别为 222.47×10^3，45.1×10^3 和 $46.54\times10^3\ \mu m^3$，合称为扩大型纤维球复合体(macroglomerular complex，MGC)(Zhao *et al*., 2016a，2016b)。

通过钙离子成像技术研究表明,棉铃虫神经纤维球 Cu 感受性信息素 *Z*11-16: Ald, DMP 感受 *Z*9-16: Ald, DMA 感受 *Z*9-14: Ald, *Z*11-16: OH 和 *Z*11-16: Ac(Wu *et al.*, 2013, 2015; Xu *et al.*, 2016)。这说明棉铃虫神经纤维球 Cu 和 DMP 参与性信息素引诱信息的接受和处理,而 DMA 参与性信息素拮抗剂的接受和处理。最近我们采用单感器记录和荧光染色标记相结合的技术成功地记录和染色标记了对 *Z*11-16: Ald 反应的受体神经元,结果显示其轴突末端投射到神经纤维球 Cu(马百伟等, 2020)。

神经纤维球接受和处理的气味化合物的信息将通过投射神经元投射到脑的高级中枢蕈形体冠(mushroom body calyx, CA)和侧角(lateral horn, LH),产生行为指令调控棉铃虫的行为反应。到目前,关于棉铃虫的嗅觉脑高级中枢对性信息素的反应尚未见有报道。

4 小结与展望

综上所述,目前,已在棉铃虫雄虫触角上明确了感受性信息素腺体活性成分的感器,鉴定了感器内气味结合蛋白和受体等感受性信息素的功能;在中枢神经水平上,已利用钙离子成像技术鉴定了接受和处理不同性信息素腺体活性成分的触角叶神经纤维球。这些研究成果为深入了解棉铃虫对性信息素的编码机制奠定了重要基础。在此基础之上,以下几个方面值得深入研究。首先,一些棉铃虫性信息素受体的功能和定位尚未明确,需要进一步鉴定。其次,棉铃虫性信息素单个组分活性低或无,而特定比例的性信息素组分混合物具有明显的增效作用,其机制亟待研究。深入研究脑内嗅觉初级中枢和高级中枢对性信息素信息的接受、处理和整合机制将有助于揭示性信息素混合物的增效机制。再者,棉铃虫一个受体神经元可以感受多种性信息素成分刺激并呈现出不同的反应特征,具体体现在反应的频率、振幅和时间的持久度差异;不同亚型的毛形感器内受体神经元感受的气味化合物有重叠的现象,这现象是否是一种性信息素感受的保障机制且在物种分化或生殖隔离发挥更重要的作用?这一问题需要进一步研究。还有,棉铃虫性信息素感受受到寄主植物、光周期、温度、湿度等环境因素的影响,环境因子对棉铃虫性信息素感受的影响及其分子和神经机制也是重要的研究内容。最后,在明确棉铃虫嗅觉信息处理的神经及生理基础上,以环保绿色的化学生态学手段防控害虫,将科研工作与实际农业生产相结合也是重要的研究目标。

参考文献(References)

Cao S, Huang T, Shen J, Liu Y, Wang G, 2020. An orphan pheromone receptor affects the mating behavior of *Helicoverpa armigera*. *Front. Physiol.*, 11: 413.

Chang HT, Guo MB, Wang B, Liu Y, Dong SL, Wang GR, 2016. Sensillar expression and responses of olfactory receptors reveal different peripheral coding in two *Helicoverpa* species using the same pheromone components. *Sci. Rep.*, 6: 18742.

Chang HT, Liu Y, Ai D, Jiang XC, Dong SL, Wang GR, 2017. A pheromone antagonist regulates optimal mating time in the moth *Helicoverpa armigera*. *Curr. Biol.*, 27(11): 1610-1615.

Dong JF, Zhao XC, Wang GR, 2015. Mechanism of sex pheromone reception and encoding in *Helicoverpa assulta*. *Chin. J. Biol. Control*, 31(4): 568-574. [董钧锋, 赵新成, 王桂荣, 2015. 烟青虫对性信息素的感受和编码机制. 中国生物防治学报, 31(4): 568-574]

Dong K, Duan HX, Liu JT, Sun L, Gu SH, Yang RN, Dhalid KH, Gao XW, Zhang YJ, Guo YY, 2017a. Key site residues of pheromone-binding protein 1 involved in interacting with sex pheromone components of *Helicoverpa armigera*. *Sci. Rep.*, 7: 16859.

Dong K, Sun L, Liu JT, Gu SH, Zhou JJ, Yang RN, Dhiloo KH, Gao XW, Guo YY, Zhang YJ, 2017b. RNAi-induced electrophysiological and behavioral changes reveal two pheromone binding proteins of *Helicoverpa armigera* involved in the perception of the main sex pheromone component *Z*11-16: Ald. *J. Chem. Ecol.*, 43(2): 207-214.

Guo H, Huang LQ, Pelosi P, Wang CZ, 2012. Three pheromone-binding proteins help segregation between two *Helicoverpa* species utilizing the same pheromone components. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 42(9): 708-716.

Hansson BS, Stensmyr MC, 2011. Evolution of insect olfaction. *Neuron*, 72(5): 698-711.

Hughes GP, Cardé RT, 2020. Do *Helicoverpa armigera* moths signal their fecundity by emission of an antagonist? *J. Chem. Ecol.*, 6: 21-29.

Jiang XJ, Guo H, Di C, Yu SL, Zhu LG, Huang LQ, Wang CZ, 2014. Sequence similarity and functional comparisons of pheromone receptor orthologs in two closely related *Helicoverpa* species. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 48: 63-74.

Karlson P, Butenandt A, 1959. Pheromones (ectohormones) in insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 4: 39-58.

Kehat M, Dunkelblum E, 1990. Behavioral responses of male *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) moths in a flight tunnel to combinations of components identified from female sex pheromone glands. *J. Insect Behav.*, 3(1): 75-83.

Kehat M, Gothilf S, Dunkelblum E, Greenberg S, 1980. Field evaluation of female sex pheromone components of the cotton bollworm, *Heliothis armigera*. *Entomol. Exp. Appl.*, 27(2): 188-193.

Leal WS, 2013. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annu. Rev. Entomol.*, 58: 373 - 391.

Li RT, Ning C, Huang LQ, Dong JF, Li XC, Wang CZ, 2017. Expressional divergences of two desaturase genes determine the opposite ratios of two sex pheromone components in *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa assulta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 90: 90 - 100.

Liu NY, Xu W, Papanicolaou A, Dong SL, Anderson A, 2014. Identification and characterization of three chemosensory receptor families in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *BMC Genomics*, 15(1): 597.

Liu Y, Gu SH, Zhang YJ, Guo YY, Wang GR, 2012. Candidate olfaction genes identified within the *Helicoverpa armigera* antennal transcriptome. *PLoS ONE*, 7(10): e48260.

Liu Y, Liu CC, Lin KJ, Wang GR, 2013. Functional specificity of sex pheromone receptors in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *PLoS ONE*, 8(4): e62094.

Ma BW, Liu XL, Chang YJ, Xie GY, Chen WB, Liu Y, Zhao XC, Wang GR, 2020. Projection of major pheromone tuned olfactory receptor neurons of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) revealed by using single sensillum recording and staining. *Acta Entomol. Sin.*, 63(4): 413 - 420. [马百伟, 刘晓岚, 常亚军, 谢桂英, 陈文波, 刘杨, 赵新成, 王桂荣, 2020. 利用单感器记录和神经元示踪结合对棉铃虫主要性信息素感器内神经元投射的鉴定. 昆虫学报, 63(4): 413 - 420]

Nesbitt BF, Beevor PS, Hall DR, Lester R, 1979. Female sex pheromone components of the cotton bollworm, *Hellothis armigera*. *J. Insect Physiol.*, 25(6): 535 - 541.

Nesbitt BF, Beevor PS, Hall DR, Lester R, 1980. (*Z*)-9-Hexadecenal: a minor component of the female sex pheromone of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae). *Entomol. Exp. Appl.*, 27: 306 - 308.

Piccardi P, Capizzi A, Cassani G, Spinelli P, Arsura E, Massardo P, 1977. A sex pheromone component of the Old World bollworm *Heliothis armigera*. *J. Insect Physiol.*, 23: 1443 - 1445.

Sun YL, Huang LQ, Pelosi P, Wang CZ, 2013. A lysine at the C-terminus of an odorant-binding protein is involved in binding aldehyde pheromone components in two *Helicoverpa* species. *PLoS ONE*, 8(1): e55132.

Symonds MR, Elgar MA, 2008. The evolution of pheromone diversity. *Trends Ecol. Evol.*, 23(4): 220 - 228.

Tamhankar AJ, Rajendran TP, Rao NH, Lavekar RC, Jeyakumar P, Monga D, Bambawale OM, 2003. Variability in response of *Helicoverpa armigera* males from different locations in India to varying blends of female sex pheromone suggests male sex pheromone response polymorphism. *Curr. Sci.*, 84(3): 448 - 450.

Wang B, Liu Y, Wang GR, 2018. Proceeding from *in vivo* functions of pheromone receptors: peripheral-coding perception of pheromones from three closely related species, *Helicoverpa armigera*, *H. assulta*, and *Heliothis virescens*. *Front. Physiol.*, 9: 1188.

Wang GR, Guo YY, Wu KM, 2002. Observation on the ultrastructures of antennal sensilla in *Helicoverpa armigera*. *Sci. Agr. Sin.*, 35(12): 1479 - 1482. [王桂荣, 郭予元, 吴孔明, 2002. 棉铃虫触角感器的超微结构观察. 中国农业科学, 35(12): 1479 - 1482]

Wang GR, Wu KM, Guo YY, 2004. Molecular cloning and bacterial expression of pheromone binding protein in the antennae of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 57: 15 - 27.

Wang HL, Zhao CH, Wang CZ, 2005. Comparative of sex pheromone composition and biosynthesis in *Helicoverpa armigera*, *H. assulta* and their hybrid. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 35(6): 575 - 583.

Wu DM, Yan YH, Cui JR, 1997. Sex pheromone components of *Helicoverpa armigera*: chemical analysis and field tests. *Entomol. Sin.*, 4(4): 350 - 356.

Wu H, Hou C, Huang LQ, Yan FS, Wang CZ, 2013. Peripheral coding of sex pheromone blends with reverse ratios in two *Helicoverpa* species. *PLoS ONE*, 8(7): e70078.

Wu H, Xu M, Hou C, Huang LQ, Dong JF, Wang CZ, 2015. Specific olfactory neurons and glomeruli are associated to differences in behavioral responses to pheromone components between two *Helicoverpa* species. *Front. Behav. Neurosci.*, 9: 206.

Xu M, Dong JF, Wu H, Zhao X, Huang LQ, Wang CZ, 2017. The inheritance of the pheromone sensory system in two *Helicoverpa* species: dominance of *H. armigera* and possible introgression from *H. assulta*. *Front. Cell. Neurosci.*, 10: 302.

Xu M, Guo H, Hou C, Wu H, Huang LQ, Wang CZ, 2016. Olfactory perception and behavioral effects of sex pheromone gland components in *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa assulta*. *Sci. Rep.*, 6: 22998.

Yang K, Huang LQ, Ning C, Wang CZ, 2017. Two single-point mutations shift the ligand selectivity of a pheromone receptor between two closely related moth species. *eLife*, 6: e29100.

Ye ZF, Liu XL, Han Q, Liao H, Dong XT, Zhu GH, Dong SL, 2017. Functional characterization of PBP1 gene in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) by using the CRISPR/Cas9 system. *Sci. Rep.*, 7: 8470.

Zhang DD, Zhu KY, Wang CZ, 2010. Sequencing and characterization of six cDNAs putatively encoding three pairs of pheromone receptors in two sibling species, *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa assulta*. *J. Insect Physiol.*, 56(6): 586 - 593.

Zhang J, Wang B, Dong SL, Cao DP, Dong SL, Walker WB, Liu Y, Wang GR, 2015. Antennal transcriptome analysis and comparison of chemosensory gene families in two closely related Noctuidae moths, *Helicoverpa armigera* and *H. assulta*. *PLoS ONE*, 10(2): e0117054.

Zhang JP, Salcedo C, Fang YL, Zhang RJ, Zhang ZN, 2012. An overlooked component: (*Z*)-9-tetradecenal as a sex pheromone in *Helicoverpa armigera*. *J. Insect Physiol.*, 58(9): 1209 - 1216.

Zhang TT, Mei XD, Feng JN, Berg BG, Zhang YJ, Guo YY, 2012. Characterization of three pheromone-binding proteins (PBPs) of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and their binding properties. *J. Insect Physiol.*, 58(7): 941 - 948.

Zhao XC, Chen QY, Guo P, Xie GY, Tang QB, Guo XR, Berg BG, 2016a. Glomerular identification in the antennal lobe of the male moth *Helicoverpa armigera*. *J. Comp. Neurol.*, 524(15): 2993 - 3013.

Zhao XC, Ma BW, Berg BG, Xie GY, Tang QB, Guo XR, 2016b. A global-wide search for sexual dimorphism of glomeruli in the antennal lobe of female and male *Helicoverpa armigera*. *Sci. Rep.*, 6: 35204.

Zhao XC, Wang CZ, 2006. Inheritance and evolution of the sex pheromone communication system of lepidopterous moths. *Acta Entomol. Sin.*, 49(2): 323 - 332. [赵新成, 王琛柱, 2006. 蛾类昆虫性信息素通讯系统的遗传与进化. 昆虫学报, 49(2): 323 - 332]

Zhao XC, Yan YH, Wang CZ, 2003a. The sex-pheromone communication system of *Heliothis/Helicoverpa* species (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomol. Sin.*, 46(1): 96 - 107. [赵新成, 阎云花, 王琛柱, 2003a. 实夜蛾属和铃夜蛾属昆虫性信息素通讯系统的研究进展. 昆虫学报, 46(1): 96 - 107]

Zhao XC, Yan YH, Wang CZ, 2003b. EAG response of the male cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and the male oriental tobacco budworm (*H. assulta*) to female sex pheromones. *Acta Zool. Sin.*, 49(6): 795 - 799. [赵新成, 阎云花, 王琛柱, 2003b. 雄性棉铃虫和烟青虫对雌性信息素的触角电生理反应. 动物学报, 49(6): 795 - 799]

Zhao XC, Yan YH, Wang CZ, 2006. Behavioral and electrophysiological responses of *Helicoverpa assulta*, *H. armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), their F_1 hybrids and backcross progenies to sex pheromone component blends. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.*, 192(10): 1037 - 1047.

Zhao XC, Zhai Q, Wang GR, 2015. The structure of the antennal lobe in insects. *Acta Entomol. Sin.*, 58(2): 190 - 209. [赵新成, 翟卿, 王桂荣, 2015. 昆虫触角叶的结构. 昆虫学报, 58(2): 190 - 209]

(责任编辑: 赵利辉)